

- [3] 马挺军, 李 军, 屠鹏飞, 等. 土贝母的化学成分研究 [J]. 西北植物学报, 2005, 25(6): 1163-1165.
- [4] 张雷红, 殷志琦, 叶文才, 等. 海金沙草化学成分的研究 [J]. 中国中药杂志, 2005, 30(19): 1522-1524.
- [5] Jean W, Augustin E, Nkengfack Z, et al. A new prenylated isoflavone and long chain esters from two *Erythrina* species [J]. *J Nat Prod*, 1990, 53(6): 1425-1429.
- [6] Sadtler Standard Carbon ^{13}C -NMR Spectra [S]. 1976.
- [7] 浮光苗, 余伯阳, 朱丹妮. 月腺大戟化学成分的分离 [J]. 中国药科大学学报, 2003, 34(4): 377-379.

花木蓝根的化学成分研究

苏艳芳^{1*}, 邱利芝^{1,2}, 吕 敏¹, 李春正¹, 郭丽萍¹, 吴 迪¹

(1. 天津大学药学院, 天津 300072; 2. 天津医学高等专科学校, 天津 300222)

摘 要:目的 研究木蓝山豆根的主要来源植物之一花木蓝 *Indigofera kirilowii* 根的化学成分。方法 运用溶剂萃取、硅胶柱色谱、重结晶等分离纯化, 根据理化性质、NMR 谱数据及与对照品共薄层色谱鉴定化合物的结构。结果 从花木蓝根中分离鉴定了 13 个化合物: cibarian (I)、hetranthin A (II)、3-硝基丙酰基- β -D-葡萄糖吡喃糖 (III)、6-氧-丙酰基-2,3-二-氧-(3-硝基丙酰基)- α -D-葡萄糖吡喃糖 (IV)、2,3,4,6-四-氧-(3-硝基丙酰基)- α -D-葡萄糖吡喃糖 (V)、coronarin (VI)、corollin (VII)、3-硝基丙酸 (3-nitropropionic acid, VIII)、豆甾醇-3-氧-葡萄糖苷 (stigmaterol-3-O-glucopyranoside, IX)、胡萝卜苷 (daucosterol, X)、 β -谷甾醇 (β -sitosterol, XI)、羽扇豆醇 (lupeol, XII)、白桦脂酸 (betulinic acid, XIII)。结论 所有化合物均为首次从花木蓝根中分离得到, 其中化合物 I ~ IV、VIII、IX、XIII 为首次从花木蓝中分离得到。化合物 I、II ~ VIII 可能为引起花木蓝根毒性的成分。

关键词: 花木蓝; 黄酮; 3-硝基丙酰基葡萄糖类; 三萜; 甾醇

中图分类号: R284.1

文献标识码: A

文章编号: 0253-2670(2008)11-1626-03

木蓝属 *Indigofera* L. 系豆科蝶形花亚科中的一个属, 我国产 80 种 8 变种^[1], 多种植物有药用记载, 其中花木蓝 *I. kirilowii* Maxim. ex Palibin、苏木蓝 *I. carlesii* Craib、宜昌木蓝 *I. decoa* Lindl. var. *ichangensis* Y. Y. Fang et C. Z. Zheng、多花木蓝 *I. amblyantha* Craib 是“木蓝山豆根”的主要来源植物^[2], 在陕西、河南、湖北、山西等省作为中药山豆根的代用品应用, 具清热解暑、消肿利喉之功效。在临床使用中, 有报道以木蓝山豆根代替山豆根使用后, 部分病人在服药后几天内出现以神经系统为主的中毒症状, 严重者导致死亡^[2]。

为明确木蓝山豆根的化学、毒性成分, 笔者对木蓝属两种植物苏木蓝、花木蓝的化学成分进行了较系统的研究^[3~5]。本文报道从花木蓝根分离鉴定的 13 个化合物: cibarian 即食物黄芩素, 1,6-二-氧-(3-硝基丙酰基)- β -D-葡萄糖吡喃糖 (I)、hetranthin A 即 (2S)-3',4'-二羟基-7-甲氧基二氢黄酮 (II)、3-硝基丙酰基- β -D-葡萄糖吡喃糖 (III)、6-氧-丙酰基-2,3-二-氧-(3-硝基丙酰基)- α -D-葡萄糖吡喃糖 [6-O-acryloyl-2,3-di-O-(3-nitropropanoyl)- α -D-glucopyranose, IV]、2,3,4,6-四-氧-(3-硝基丙酰基)- α -D-葡萄糖吡喃糖 [2,3,4,6-tetra-O-(3-nitropropanoyl)- α -D-glucopyranose, V]、corona-

rian 即 2,6-二-氧-(3-硝基丙酰基)- α -D-葡萄糖吡喃糖 (VI)、corollin 即 2,3,6-三-氧-(3-硝基丙酰基)- α -D-葡萄糖吡喃糖 (VII)、3-硝基丙酸 (3-nitropropionic acid, VIII)、豆甾醇-3-氧-葡萄糖苷 (stigmaterol-3-O-glucopyranoside, IX)、胡萝卜苷 (daucosterol, X)、 β -谷甾醇 (β -sitosterol, XI)、羽扇豆醇 (lupeol, XII)、白桦脂酸 (betulinic acid, XIII)。以上化合物均为首次从花木蓝根中分离得到。另外, 由于 3-硝基丙酰基葡萄糖类化合物的 NMR 谱图数据报道多以氘代丙酮作为溶剂, 化合物 I 在氘代丙酮中的氢谱数据未见文献报道, 因此本实验运用 ^1H - ^1H COSY 对其氢谱数据进行了归属。

1 仪器与试剂

核磁共振谱用 Varian INOVA 500 FT 核磁共振仪测定; 柱色谱用硅胶、薄层色谱用硅胶 GF₂₅₄ 均为青岛海洋化工厂产品; 所用试剂均为分析纯。花木蓝 *I. kirilowii* Maxim. ex Palibin 根于 2004 年 9 月采自天津蓟县, 并经天津中医药大学黄石渠教授鉴定, 植物标本保存于天津大学药学院。

2 提取与分离

花木蓝根 14.7 kg, 用 95% 乙醇回流提取 3 次, 每次 2 h, 然后用 60% 乙醇回流提取 2 h。95% 和 60% 乙醇提取液合并后浓缩至无乙醇味, 加适量水混悬, 水

混悬液依次用石油醚、氯仿、醋酸乙酯萃取。醋酸乙酯萃取物(160 g)经硅胶柱色谱分离,石油醚-丙酮(1:1~1:9)梯度洗脱,500 mL 为一 流份,得到166个流份;流份7~11 合并用氯仿重结晶,得到化合物Ⅶ;流份17~19 经硅胶柱色谱分离,以氯仿-丙酮(47:3)洗脱,得到化合物Ⅰ和Ⅳ;流份48~49 合并用甲醇洗去色素,得到化合物Ⅵ;流份58~59 合并经硅胶柱色谱分离,以氯仿-丙酮(1:1)洗脱,得到化合物Ⅰ。氯仿萃取物(45 g)经硅胶柱色谱分离,石油醚-丙酮(19:1~2:8)梯度洗脱,500 mL 为一 流份,得到130个流份;流份19~25 析出结晶再经硅胶柱纯化得到化合物ⅩⅠ;流份27 的结晶用丙酮洗至无色得到化合物ⅩⅡ;流份29~30 经硅胶柱色谱分离,得到化合物ⅩⅢ和ⅩⅣ;流份39~44 用丙酮重结晶得到化合物ⅩⅤ;流份105 用丙酮重结晶得到化合物Ⅶ;流份107 析出化合物Ⅹ和Ⅹ的混合结晶;流份106 与107 的母液合并经硅胶柱色谱分离得到化合物Ⅴ。

3 结构鉴定

化合物Ⅰ:糖浆样透明固体(甲醇),¹H-NMR (acetone-*d*₆)δ:5.51(1H,d,*J*=8.0 Hz,H-1),3.37(1H,dd,*J*=8.5,9.0 Hz,H-2),3.50(1H,dd,*J*=9.0,9.0 Hz,H-3),3.38(1H,dd,*J*=9.5,9.5 Hz,H-4),3.64(1H,ddd,*J*=10.0,6.0,2.0 Hz,H-5),4.39(1H,dd,*J*=12.0,2.0 Hz,H-6a),4.27(1H,dd,*J*=11.5,6.0 Hz,H-6b),4.80,4.77(各2H,t,*J*=6.0 Hz,2×-COCH₂CH₂NO₂),3.11(4H,overlapped,2×-COCH₂CH₂NO₂);¹³C-NMR (acetone-*d*₆)δ:95.0(C-1),72.8(C-2),76.6(C-3),70.1(C-4),74.9(C-5),64.1(C-6),170.3,169.5(2×-COCH₂CH₂NO₂),30.9,30.9(2×-COCH₂CH₂NO₂),70.1,69.9(2×-COCH₂CH₂NO₂)。氢谱中,H-1 的偶合常数提示葡萄糖为β-构型,运用COSY 谱对Ⅰ在acetone-*d*₆中的氢谱数据进行了归属,其碳谱数据与文献报道^[6]对照,鉴定化合物Ⅰ为cibarian,即1,6-二-氧-(3-硝基丙酰基)-β-D-葡萄糖吡喃糖。

化合物Ⅱ:白色固体(甲醇),¹H-NMR(CD₃OD)δ:5.23(1H,dd,*J*=8.0,3.5 Hz,H-2),2.93(1H,dd,*J*=14.0,3.5 Hz,H-3a),2.49(1H,dd,*J*=14.0,8.0 Hz,H-3b),7.73(1H,d,*J*=9.0 Hz,H-5),6.47(1H,dd,*J*=8.5,2.0 Hz,H-6),6.51(1H,d,*J*=2.0 Hz,H-8),6.68(1H,d,*J*=2.5 Hz,H-2'),6.64(1H,d,*J*=8.0 Hz,H-5'),6.49(1H,dd,*J*=8.0,2.5 Hz,H-6'),3.92(3H,s,OCH₃);

¹³C-NMR(CD₃OD)δ:78.4(C-2),41.3(C-3),201.7(C-4),116.0(C-4a),134.4(C-5),109.6(C-6),162.9(C-7),99.8(C-8),165.6(C-8a),131.1(C-1'),117.4(C-2'),145.8(C-3'),144.7(C-4'),117.6(C-5'),121.9(C-6')。以上数据与文献报道^[7]对照,鉴定化合物Ⅱ为hetranthin A 即(2*S*)-3',4'-二羟基-7-甲氧基二氢黄酮。

化合物Ⅲ:无色液体,¹H-NMR (acetone-*d*₆)δ:4.75(2H,t,*J*=6.0 Hz,-COCH₂CH₂NO₂),3.00(2H,t,*J*=6.0 Hz,-COCH₂CH₂NO₂),4.12(2H,q,*J*=6.8 Hz,-OCH₂CH₃),1.21(3H,t,*J*=6.8 Hz,-OCH₂CH₃);¹³C-NMR (acetone-*d*₆)δ:170.8(-COCH₂CH₂NO₂),70.8(-COCH₂CH₂NO₂),31.5(-COCH₂CH₂NO₂),61.5(-OCH₂CH₃),14.3(-OCH₂CH₃)。以上数据结合文献报道^[3],鉴定化合物Ⅲ为3-硝基丙酸乙酯。

化合物Ⅳ:白色针晶(丙酮),与kirilowin B[2-氧-丙烯酰基-3,6-二-氧-(3-硝基丙酰基)-α-D-葡萄糖吡喃糖,2-*O*-acryloyl-3,6-di-*O*-[3-nitropropanoyl]-α-D-glucopyranose]^[4]以约1:1 的混合物分离得到。¹H-NMR (acetone-*d*₆)δ:5.31(1H,d,*J*=3.5 Hz,H-1),4.77(1H,overlap,H-2),5.51(1H,dd,*J*=10.0,9.0 Hz,H-3),3.72(1H,dd,*J*=9.5,9.5 Hz,H-4),4.17(1H,m,H-5),4.44(1H,dd,*J*=12.0,2.0 Hz,H-6a),4.34(1H,dd,*J*=12.0,5.5 Hz,H-6b),6.18(1H,dd,*J*=17.5,10.5 Hz,-COCH=CH₂),6.38(1H,dd,*J*=17.5,1.5 Hz,-COCH=CH₂),5.91(1H,dd,*J*=10.5,1.5 Hz,-COCH=CH₂),4.77(4H,overlap,2×-COCH₂CH₂NO₂),3.07(4H,overlap,2×-COCH₂CH₂NO₂);¹³C-NMR (acetone-*d*₆)δ:90.6(C-1),73.1(C-2),74.0(C-3),69.3(C-4),70.2(C-5),64.0(C-6),166.4(-COCH=CH₂),129.2(-COCH=CH₂),131.5(-COCH=CH₂),170.4,170.4(2×-COCH₂CH₂NO₂),31.5(2×-COCH₂CH₂NO₂),70.6,70.8(2×-COCH₂CH₂NO₂)。综合分析COSY、HMQC 和HMBC 谱,鉴定化合物Ⅳ为6-氧-丙烯酰基-2,3-二-氧-(3-硝基丙酰基)-α-D-葡萄糖吡喃糖。

化合物Ⅴ:白色针晶(丙酮),¹H-NMR (acetone-*d*₆)δ:5.39(1H,d,*J*=3.5 Hz,H-1),4.95(1H,dd,*J*=10.0,3.5 Hz,H-2),5.66(1H,dd,*J*=10.0,9.5 Hz,H-3),5.22(1H,dd,*J*=10.0,9.5 Hz,H-4),4.34(1H,m,H-5),4.25(2H,overlapped),3.06

(8H, overlap, $4 \times -\text{COCH}_2\text{CH}_2\text{NO}_2$), 4.81 (8H, overlapped, $4 \times -\text{COCH}_2\text{CH}_2\text{NO}_2$)。氢谱与文献报道^[5]比较, 鉴定化合物 V 为 2,3,4,6-四-氧-(3-硝基丙酰基)- α -D-葡萄糖吡喃糖。

化合物 VI: 白色针晶(丙酮), 与同属植物苏木蓝根^[3]中获得的化合物 coronarian 理化性质相似, 共薄层色谱时其显色行为和 Rf 值均一致, 故鉴定为 coronarian, 即 2,6-二-氧-(3-硝基丙酰基)- α -D-葡萄糖吡喃糖。

化合物 VII: 白色针晶(丙酮), 与同属植物苏木蓝根中获得的化合物 corollin^[3]理化性质相似, 共薄层色谱时其显色行为和 Rf 值均一致, 故鉴定为 corollin, 即 2,3,6-三-氧-(3-硝基丙酰基)- α -D-葡萄糖吡喃糖。

化合物 VIII: 白色长针状结晶(氯仿), 与同属植物苏木蓝根中获得的化合物 3-硝基丙酸^[3]理化性质相似, 共薄层色谱时 Rf 值一致, 用溴酚蓝乙醇溶液显色均呈亮黄色, 故鉴定为 3-硝基丙酸。

化合物 IX 和 X: 白色颗粒状固体(甲醇), $^1\text{H-NMR}$ ($\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$) δ : 5.34 (br s, H-6), 5.21 (dd, $J=15.0, 8.5$ Hz, 烯氢), 5.07 (d, $J=7.5$ Hz, H-1'), 4.58 (dd, $J=12.0, 2.0$ Hz, H-6'a), 4.43 (dd, $J=12.0, 5.0$ Hz, H-6'b), 3.93~4.33 (H-3 及葡萄糖上其他质子)。其溶解性、薄层色谱显色行为、Rf 值和氢谱数据与同属植物苏木蓝根中获得的豆甾醇-3-氧-葡萄糖苷和胡萝卜苷混合物^[3]均一致, 故鉴定为豆甾醇-3-氧-葡萄糖苷与胡萝卜苷约 1:2 的混合物。

化合物 XI: 白色晶体(丙酮), 与同属植物苏木蓝根中获得的 β -谷甾醇对照品共薄层色谱, 其显色行为和 Rf 值均一致, 故鉴定为 β -谷甾醇。

化合物 XII: 白色针晶, 与同属植物苏木蓝根中

获得的羽扇豆醇共薄层色谱时, 其显色行为和 Rf 值均一致^[8], 故鉴定为羽扇豆醇。

化合物 XIII: 白色半透明状固体(丙酮), 与同属植物苏木蓝根中获得的白桦脂酸共薄层色谱时, 其显色行为和 Rf 值均一致^[3], 故鉴定为白桦脂酸。

4 讨论

花木蓝根中含有大量的 3-硝基丙酮、3-硝基丙酸乙酯以及 corollin, cibarian, coronarian, 6-氧-丙烯酰基-2,3-二-氧-(3-硝基丙酰基)- α -D-葡萄糖吡喃糖、2,3,4,6-四-氧-(3-硝基丙酰基)- α -D-葡萄糖吡喃糖等 3-硝基丙酰基葡萄糖类化合物, 该类化合物在人和动物的胃中极易水解生成 3-硝基丙酸, 从而导致人和动物中毒^[3,4]。因此, 花木蓝根中含有大量 3-硝基丙酸及其葡萄糖酯类化合物可能是引起毒性的主要成分。另外, 对花木蓝茎和叶的化学研究表明, 其地上部分虽然也含有此类化合物, 但量很低^[5], 提示 3-硝基丙酸以及 3-硝基丙酰基葡萄糖类化合物主要集中在花木蓝的根中。

参考文献:

- [1] 方云亿, 郑朝宗. 国产木蓝属的系统研究 [J]. 植物分类学报, 1989, 27(3): 161-177.
- [2] 徐国钧, 徐璐珊. 常用中药材品种整理和质量研究 [M]. 福州: 福建科学技术出版社, 1994.
- [3] 苏艳芳, 张新鑫, 杨静, 等. 苏木蓝化学成分的研究 [J]. 中草药, 2004, 35(6): 608-611.
- [4] Su Y F, Li C Z, Gao Y, et al. Acryloylated glucose 3-nitropropanoates from *Indigofera kirilowii* [J]. *J Nat Prod*, 2005, 68(12): 1785-1786.
- [5] 苏艳芳, 杨媛, 范伟, 等. 花木蓝茎和叶化学成分研究 [J]. 中草药, 2006, 37(12): 1775-1777.
- [6] Pfeffer P E, Valentine K M. Assessment of ^{13}C -shift parameters in di- and tri-O-(3-nitropropanoyl)-D-glucopyranoses [J]. *Carbohydr Res*, 1979, 73(1): 1-8.
- [7] Rehman A, Malik A, Riaz N, et al. Lipoxigenase inhibiting flavonoids from *Indigofera tetrantha* [J]. *Heterocycles*, 2004, 63(2): 359-366.

循环制备 HPLC 分离纯化朝鲜白头翁中三萜皂苷

关颖丽^{1,2}, 尹虹¹, 刘建宇¹, 许永男^{1*}

(1. 沈阳药科大学 SK Chemicals 药物研究室, 辽宁 沈阳 110016; 2. 通化师范学院 制药与食品科学系, 吉林 通化 134002)

摘要: 目的 研究分离纯化朝鲜白头翁中三萜皂苷的新方法。方法 利用溶剂提取法、柱色谱法及循环制备 HPLC 进行分离纯化。结果 从朝鲜白头翁中分离得到 4 个化合物, 分别鉴定为: 3-O- α -L-rhamnopyranosyl (1 $\rightarrow$ 2) [β -D-glucopyranosyl (1 $\rightarrow$ 4)]- α -L-arabinopyranosyl hederagenin 28-O- α -L-rhamnopyranosyl (1 $\rightarrow$ 4)- β -D-

收稿日期: 2008-04-16

作者简介: 关颖丽(1974-), 女, 吉林通化人, 讲师, 硕士, 主要从事生药有效成分的分离鉴定及生物活性研究。

Tel: (0435) 3209377 E-mail: guanyingli7151@126.com

* 通讯作者 许永男 Tel: (024) 23986445 E-mail: ynxucn@yahoo.com.cn